

Artículo de
InvestigaciónEstudio fitoquímico preliminar y de actividad antimicrobiana de
la especie *Lippia alba* originaria del Piedemonte AmazónicoYury Paola García-Cuellar¹,
Astrid Díaz-Núñez¹, Leidy Lineth
Oyola-Castillo¹, José Brango-
Vanegas², Jhon Carlos Castaño-
Osorio³, Jhon Ironzi Maldonado-
Rodríguez¹¹Grupo BPNA. Universidad de la Amazonia,
Flores-Caquetá.²Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-
Cundinamarca, Colombia³Universidad del Quindío, Armenia-Quindío,
Colombia.Autor para Correspondencia*:
j.maldonado@udla.edu.coRecibido 05 de julio de 2014.
Aceptado 25 de diciembre 2014.

Resumen

Un estudio químico preliminar de extractos de Hexano, Acetato de etilo y Metanol permitió establecer la presencia de flavonoides, taninos, y terpenos presentes en la especie *Lippia alba* que crece en los alrededores de Florencia-Caquetá, región Sur-oriental de Colombia. La composición de su aceite esencial fue determinada por cromatografía de gases-masas (GC-MS) cuyo análisis permitió indicar por primera vez el quimiotipo Carvona, 1,8-cineol, limoneno; en función de los tres componentes mayoritarios. Tanto extractos como su aceite fueron ensayados de manera preliminar contra las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, y *Escherichia coli*. El aceite esencial mostró actividad moderada contra todos estos microorganismos mientras que de los extractos solamente el acetato de etilo mostró actividad, también moderada contra el patógeno *Escherichia coli*.

Palabras clave: Aceite esencial, *Enterobacter cloacae*, *Lippia alba*, quimiotipo, *Ralstonia pickettii*.

Abstract

A preliminary study on chemical extracts of hexane, ethyl acetate and methanol allowed to establish the presence of flavonoids, tannins and terpenes present in species of *Lippia alba* growing around Florencia-Caquetá, southeast region of Colombia. The essential oil composition was determined by gas-mass chromatography (GC-MS) analysis which allowed to indicate a different chemo type reported to Colombia. Both extracts like oil were tested against the bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, and *Escherichia coli*, where the essential oil showed moderate activity against these microorganisms while from the extracts only the ethyl acetate showed moderate activity against the pathogen *Escherichia coli*.

Key words: Chemo type, *Enterobacter cloacae*, Essential oil, *Lippia alba*, *Ralstonia pickettii*.

Introducción

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown, es una especie de carácter herbáceo aunque algunas veces arbustiva. Pertenece a la familia verbenácea y se caracteriza por ser una especie aromática debido a la riqueza y contenido variable de sus aceites esenciales presentes en toda la planta, principalmente en las hojas. (Aguilar *et al.* 2008; Gupta 1995; Tavares *et al.* 1995)

Nativa de América, se encuentra desde Texas hasta Argentina y el Caribe generalmente hasta alturas de 1800 m sobre el nivel del mar y es conocida popularmente como bálsamo de limón (Brasil), Juanilama (Costa rica), quita dolor, menta americana y toronjil isleño (Cuba), mastranto y salvia santa (Guatemala), Hierba buena (México). En Colombia es conocida en varias regiones como pronto alivio. (Medina-López *et al.* 2011; Velandy y Agudelo 2007) Para esta planta se han reportado la presencia de flavonoides, cumarinas taninos, esteroides/triterpenos, fenilpropanoides, quinonas, iridoides, lactonas terpénicas y saponinas (Hennebelle 2008; Vera *et al.* 2007; Medina-López *et al.* 2011; Higa *et al.* 1988; Sena-Filho *et al.* 2006). Su aceite esencial presenta una composición variable y con base en sus componentes mayoritarios, se han descrito varios quimiotipos que cambian de acuerdo al origen de procedencia (Medina-López *et al.* 2011, Velandy y Agudelo 2007). Dichas variaciones se deben entre otros factores a condiciones de tipo geográfico, genéticos, condiciones del suelo y el estado vegetativo de la planta en el momento de su recolección. (Medina-López *et al.* 2011, Ming *et al.* 2002, Ricciardi *et al.* 2000, Ricciardi *et al.* 1999).

En la medicina tradicional de Colombia y otros países, a esta planta incluyendo su aceite esencial le confieren diversas propiedades tales como analgésica, expectorante, sedante, antidiabética, carminativa, espasmódica, febrífuga, antiinflamatoria, antigripal, antipirética, contra afecciones estomacales, anticonvulsiva, afecciones de la piel, antiulcerogénica, antivirales, antirradicalaria y para las afecciones hepáticas. (Hennebelle 2008; Aguilar 2007, Bassols y Gurni 1996; Gupta 1995; Barbieri *et al.* 2002, Vale *et al.* 1999; Pascual *et al.* 2001; Abad *et al.* 1996; Savia *et al.* 2005; Barbosa-Filho *et al.* 2006).

Además de estas propiedades, se ha reportado actividad antimicrobiana de *Lippia alba* tanto de extractos de diversas partes de la planta como de su aceite esencial contra varios microorganismos, entre ellos, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. Krusei*, *C. parapsilosis*, y *C. tropicalis* entre otros; siendo el aceite esencial el componente más activo de la planta (Vera *et al.* 2007; Aguiar *et al.* 2007; Sena *et al.* 2006; Duarte *et al.* 2005; Pessini *et al.* 2003).

Considerando que existen variaciones de muchas de las propiedades atribuidas en medicina tradicional para la especie *Lippia alba*, al igual que la actividad antimicrobiana y las múltiples actividades biológicas que han mostrado varios extractos y su aceite esencial de acuerdo al sitio de procedencia y quimiotipo presente; en este trabajo se planteo como objetivo el estudio químico preliminar y de actividad antimicrobiana del aceite esencial y los extractos hexánico, acetoetílico, metanólico de la especie *Lippia alba* procedente del municipio de Florencia-Caquetá, región del piedemonte amazónico del cual no se tenían reportes hasta

el momento. También se propuso establecer el quimiotipo presente para la especie de la región del Caquetá con base en el análisis de cromatografía de gases masas de su aceite esencial para compararlo con el de otras regiones.

Materiales y métodos

Obtención del material vegetal

El material vegetal para la preparación de extractos, constituido por raíz, tallo y hojas de *Lippia alba*, fue obtenido en un mercado local de la ciudad de Florencia, capital de este departamento, durante el mes de abril de 2014. Toda la planta fue cortada en trozos pequeños y secados en estufa a 40 ± 2 °C. El material vegetal para la obtención del aceite esencial estuvo constituido principalmente por hojas y fue obtenido durante el mismo periodo de una localidad cercana al casco urbano de la ciudad de Florencia.

Obtención de extractos y aceite esencial

El material vegetal seco y posteriormente triturado en molino, (500 g) fue sometido a sucesivas extracciones por maceración hasta agotar la matriz, con hexano, acetato de etilo y metanol. Los correspondientes extractos se concentraron a presión reducida en un rotavapor. El aceite esencial fue obtenido por hidrodestilación durante 2 horas a partir de 100 gr de material vegetal constituido por hojas frescas las cuales fueron procesadas en el mismo día de la recolección. El aceite obtenido fue separado por decantación en un embudo de separación, secado con sulfato de sodio anhidro y posteriormente almacenado a 4 °C protegido de la luz.

Análisis fitoquímico

Se hizo un tamizaje fitoquímico mediante pruebas de identificación de los principales metabolitos secundarios a través de reacciones de coloración y precipitación descritas por Bilbao, Sanabria, y Domínguez, (Bilbao 1990, Sanabria 1983; Domínguez 1973).

Actividad antimicrobiana

Se llevaron a cabo ensayos de actividad antimicrobiana empleando cepas de *S. aureus* (Gram +), (ATCC 6538), *E. coli* (Gram -), (ATCC 25992), *P. aeruginosa*, *R. pickettii*, *E. cloacae*, y *C. albicans*. Las cepas suministradas por el Grupo de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío, fueron mantenidas en suero tripticasa de soya e incubadas por 24 horas a 37 °C. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se siguió el método de difusión en agar, utilizando discos estériles de papel Whatman No. 1 de 1,25 cm de diámetro, los cuales se colocaron sobre cajas de petri conteniendo medio de cultivo sólido Muller-Hinton previamente inoculado con los microorganismos. Los discos fueron impregnados y posteriormente secados a temperatura ambiente por 5 minutos, con c/u de los extractos, aceites esenciales y los distintos controles

negativos (solventes y agua respectivamente). Las placas se incubaron a 37 °C por 24 horas y después de este periodo se midieron los halos de inhibición en mm. Cuando se presentó crecimiento microbiano alrededor del disco impregnado con el extracto o aceite esencial, la prueba se consideró negativa. En todos los casos se empleó ampicilina como control de inhibición positiva.

Análisis de Cromatografía de gases-Masas (GC-MS)

La identificación de los constituyentes volátiles se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Shimadzu CG-MS-QP-2010, equipado con un detector de masas selectivo Chanelectron de 1 A 1024 m-z, una columna capilar HPXTI-5 de 5 % fenil (25m x 0,20 mm x 0,33 µm de diámetro). La cromatografía de gases y espectrometría de masas GC-MS se llevó a cabo usando inyección Splitless con el inyector a 200 °C, el detector FID a 250 °C, la columna a 60 °C, con rampa de calentamiento de 3 °C min⁻¹ y una temperatura final de 230 °C. Se usó helio como gas de arrastre a 1 ml/min. El sistema de electroionización fue de 70 eV. La muestra del aceite esencial se solubilizó en acetato de etilo para el análisis. Los componentes del aceite esencial se identificaron por comparación con los datos reportados por la literatura, y el perfil de la base de datos disponible en el equipo Wiley 138 y Nist 98.

Resultados y discusión

Rendimiento de extractos y aceite esencial

El extracto de acetato de etilo fue el de mayor rendimiento (6,62%) seguido del extracto metanólico (4,91 %) (Tabla 1). Esto demuestra que la mayoría de compuestos de *Lippia alba* estuvieron presentes en los extractos de acetato de etilo y metanólico indicando la presencia de metabolitos desde medianamente polares hasta aquellos con características altamente polares. Por otra parte, el aceite esencial obtenido a partir de hojas mostró un rendimiento de 2,06 % usando el método de hidrodestilación. Uno de los problemas que se observaron fue la formación de una emulsión que a pesar de ser eliminada por extracción con metanol, tal proceso pudo tener alguna incidencia dentro del rendimiento de extracción.

Análisis fitoquímico Preliminar

Como se indica en la tabla 2, se pudo evidenciar la presencia de flavonoides, cumarinas, taninos, esteroides, triterpenos y quinonas, los cuales ya han sido reportados para la especie; sin embargo, aunque en algunos reportes se

Tabla 1. Rendimiento de extractos de *Lippia alba*

Tipo de extracto	% de Rendimiento (w/w)
Extr. Hexánico	1,89
Extr. Acetoetílico	6,62
Extr. Metanólico	4,91
Aceite esencial	2,06

Tabla 2. Análisis fitoquímico preliminar de los extractos de *Lippia alba*

Tipo de metabolito	Extracto		
	E. hexánico	E. Acetoetilico	E. Metanólico
Flavonoides	-	-	+
Cumarinas	-	+	±
Taninos	-	+	+
Saponinas	-	-	-
Esteroides/triterpenos	+	-	-
Quinonas	+	+	-
Glucósidos Cardiotónicos	-	-	-
Alcaloides	-	-	-
(E)= extracto (+) = Prueba positiva, (-) Prueba negativa ± Prueba dudosa			

habla de la presencia de saponinas (Vera *et al.* 2007) y alcaloides (Medina-López *et al.* 2011), en este estudio no se observaron tales compuestos, y la razón de esto quizás radica en las diferentes condiciones medioambientales en las que crece cada planta. (Ming 1992, Ricciardi 2000; Blanco y Agudelo 2007).

Se sabe que la composición y contenido de metabolitos secundarios presentes pueden variar de acuerdo a condiciones de tipo geográfico, clima, suelo, estado vegetativo de la planta al momento de la recolección e incluso variaciones genéticas entre plantas. Del mismo modo la prueba negativa para algunos metabolitos está directamente asociada con la sensibilidad del método y en ocasiones las cantidades presentes en la planta y por ende en el extracto no son suficientes para que sean detectadas. Con respecto a los tres extractos, sólo el extracto metanólico mostró ser positivo para flavonoides. Este resultado sugiere el carácter polar de las moléculas de flavonoide indicando que probablemente se trata de glicósidos de flavonoide, pues es muy común encontrar este tipo de moléculas glicosiladas formando los respectivos

heterósidos. Del mismo modo, los esteroides o triterpenoides son moléculas por lo general de carácter poco o medianamente polar que generalmente suelen encontrarse en las fracciones hexánicas o de polaridad intermedia como el acetato de etilo o acetona. En este estudio solamente el extracto hexánico mostró ser positivo para la presencia este tipo de moléculas en donde también se observó la presencia de quinonas, aunque estas últimas estuvieron también presentes en el extracto de acetato de etílico.

Análisis de Cromatografía de gases-masas (GC-MS)

Se separaron 30 componentes de los cuales fueron identificados 20 compuestos (Figura 1). La Carvona, el 1,8-Cineol y el Limoneno fueron los metabolitos mas abundantes presentes en el aceite esencial de esta especie (Tabla 3). Se sabe que el aceite esencial de la especie *Lippia alba* presenta diferentes componentes mayoritarios dependiendo del país o la región de procedencia, lo cual ha sido útil como marcador para identificarlas químicamente (Ricciardi *et al.* 2000).

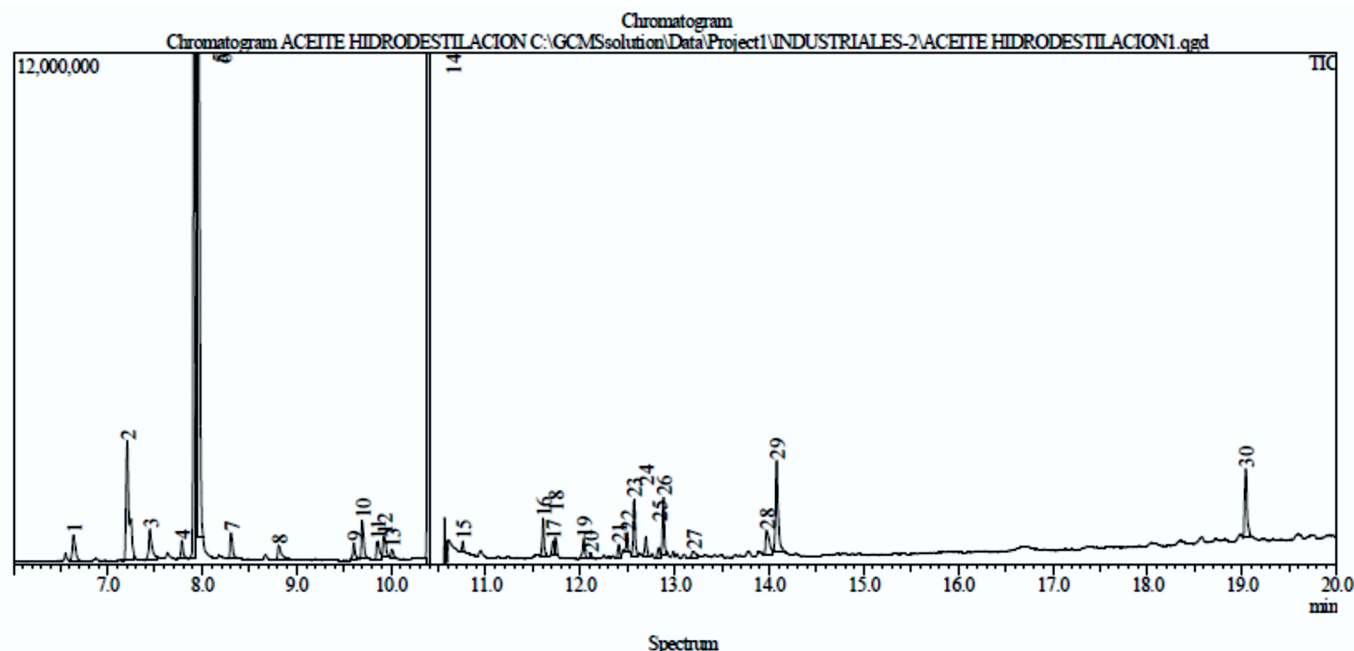
**Figura 1.** Perfil cromatográfico del aceite esencial de *Lippia alba*, Procedente del municipio de Florencia-Caquetá

Tabla 3. Compuestos identificados en el aceite esencial de *Lippia alba* procedente del municipio de Florencia-Caquetá, Colombia.

Pico	Tipo de Compuesto	Tiempo de retención	%
1	α -Pinenos	6.641	0,93
2	(+)-Sabineno	7.206	4,74
4	α -Terpinoleno	7.785	0,52
5	d-Limoneno	7.914	16,71
6	1,8-Cineol (eucaliptol)	7.958	28,55
8	Linalol	8.811	0,66
10	Carvomentenol	9.695	1,10
13	Cis-dihidrocarvona	10.01	0,28
14	Carvona	10.390	29,46
15	Acetato de exobornilo	10.758	0,24
16	α -Copaeno	11.609	0,84
17	β -bourboneno	11.712	0,35
19	Trans-Cariofileno	12.040	0,55
20	d-Germacreno	12.112	0,12
22	γ -Cadineno	12.498	0,43
26	δ -cadineno	12.882	1,37
27	Nerolidol	13.199	0,38
28	β -copaen-4 α -ol	13.976	1,13
29	Aldehído- γ -1-cadineno	14.079	2,86
30	N-hidroxi-N-(fenilmetil)bencenetamina	19.044	1,79

Así por ejemplo, basado en el constituyente mayoritario, se han descrito tres quimiotipos para Brasil: el quimiotipo A (1,8-Cineol, 34,9 %); el quimiotipo B (Limoneno 32,1 %); y el quimiotipo C (germacreno-d). Del mismo modo un quimiotipo para Guatemala (limoneno 44%); un quimiotipo para Cuba (Carvona 28,95 %); un quimiotipo para la India (linalool, 65 %); un quimiotipo para Uruguay (linalool, 55%); y así sucesivamente (Blanco-Velandia *et al.* 2007). En Colombia se han evaluado aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de varias regiones del país, lo que

ha permitido establecer básicamente un quimiotipo basado en Carvona como constituyente principal a excepción de los municipios de Colorado y Turbaco (Tabla 4), en donde el componente mayoritario correspondió ser el Geranial (Duran *et al.* 2007). Como en todos los casos, al componente mayoritario le siguen otros en menor proporción pero que aún así, hacen parte de los compuestos mayoritarios a lado de todos los demás componentes minoritarios.

Entre ellos hay que mencionar el limoneno y

Tabla 4. Comparación del quimiotipo hallado para *Lippia alba* en el municipio de Florencia con respecto a los reportados para otros municipios de Colombia.

Municipios	Compuestos mayoritarios (%)					
	Carvona	1,8Cineol	Limoneno	bicilosquifelandreno	Neral	Geranial
Florencia-Caquetá	29,46	28,55	16,71	-	-	-
Municipios de otras regiones diferentes al Caquetá (Duran <i>et al.</i> 2007)						
Venadillo	50,30		30,20	-	-	-
San Martín	42,20		26,10	-	-	-
Suaita	41,90		30,00	-	-	-
Cubará	41,50		31,20	-	-	-
Puerto Berrío	40,60		28,10	10,60	-	-
Flandes	39,40		28,50	10,90	-	-
Bolívar	38,90		30,90	-	-	-
Cali	38,80		36,10	-	-	-
Bucaramanga	38,30		31,80	-	-	-
Palmira	35,40		34,10	-	-	-
Anolaima	35,10		30,30	11,40	-	-
Armenia	34,30		30,20	13,60	-	-
Saravena	25,30		22,40	-	10,40	10,40
Colorado	-		-	-	22,60	28,80
Turbaco	-		-	-	23,60	30,50
(-) = % menor al 10 %						

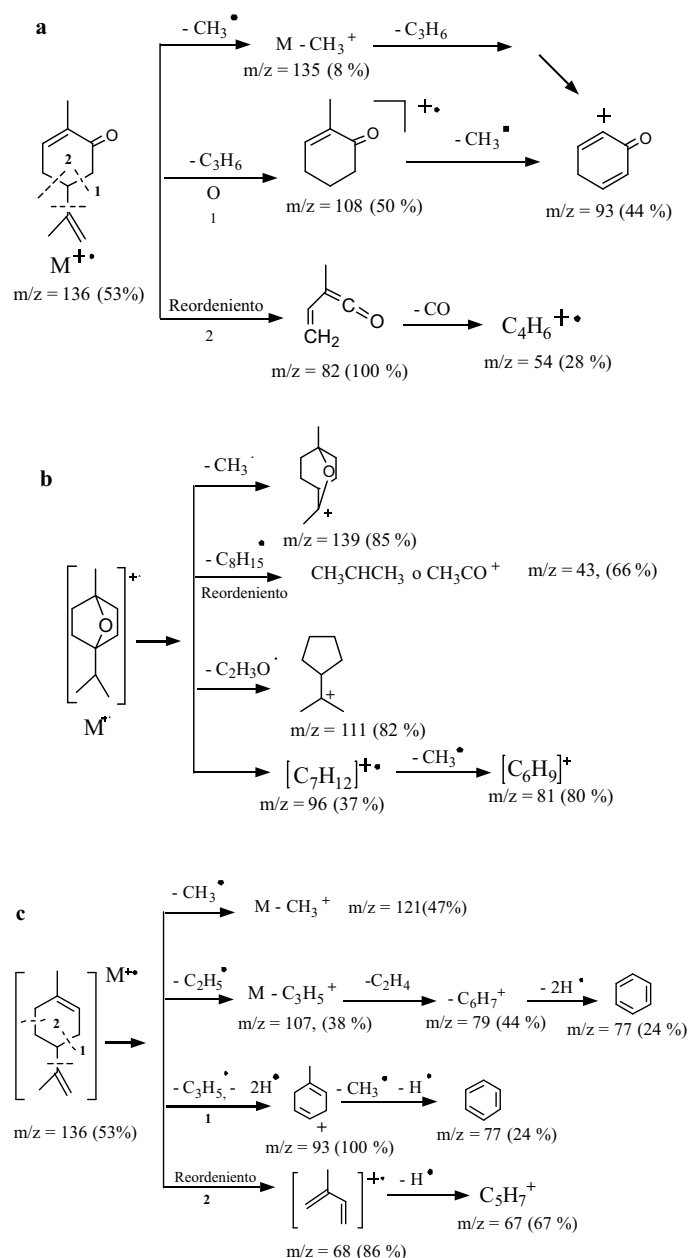


Figura 2. Patrones de fragmentación de (a) Carvona, (b) 1,8-Cineol, (c) Limoneno.

biciclosesquifelandreno (Tabla 4). Para la especie *Lippia alba* de Florencia-Caquetá, del cual no hay aún reportes, en este estudio se encontró un nuevo quimiotipo basado en los tres componentes mayoritarios que en su orden de mayor a menor corresponden a la Carvona, 1,8-cineol y el limoneno; (Tabla 4). La presencia de estos compuestos y todos aquellos minoritarios fue corroborada con los datos procedentes de la base de datos Wiley 138 y Nist 98 y con los patrones de fragmentación reportados en la literatura (Figura 2).

Si bien es cierto que el quimiotipo hallado para la especie procedente del municipio de Forencia-Caquetá sigue siendo el mismo en relación con la Carvona descrita como el componente mayoritario, esta es la primera vez que se

describe el 1,8-cineol como el segundo constituyente más abundante para la *Lippia alba* en Colombia, en lugar del limoneno (Tabla 4).

El 1,8-cineol ha sido reportado como el componente más abundante de muchas especies, en especial del género *Eucalyptus*. Ha sido muy utilizado como ingrediente en la industria de aromas, enjuagues bucales, supresores de tos, fragancias, cosméticos, saborizantes para alimentos y aditivo para cigarrillos. (Harborne y Baxter 2001). Algunos estudios han reportado su actividad insecticida y repelente de insectos (Clocke *et al.* 1987) además de ser un poderoso agente alelopático con efecto tóxico y e inhibitorio para la vegetación herbácea (Chain *et al.* 2007).

Las variaciones en el quimiotipo de *Lippia alba* en términos de los constituyentes de su aceite esencial y sus proporciones, son muy importantes ya que esto sin duda podría tener una relación directa con las múltiples propiedades descritas para la planta. Se ha descrito por ejemplo un aroma particular constituido por Linalool (42,3 %), citrales A y B (14,2 %) y 1,8-cineol cuyas características son especiales para la industria cosmética y de jabones.

La variación de constituyentes seguramente debe estar asociada al entorno ecológico puesto que muchos metabolitos secundarios son producidos por la planta debido a presiones externas tales como respuesta a depredadores, competencia entre especies o diversas condiciones de estrés ambiental por nombrar solo algunas. En este sentido sería interesante llevar a cabo estudios desde el punto de vista químico-ecológico para tratar de establecer el factor o los factores específicos que pudieran estar influyendo en las variaciones del quimiotipo presente para el aceite esencial de la especie *Lippia alba* del Caquetá.

Del mismo modo se deberían llevar a cabo estudios para establecer el quimiotipo de todas las especies de *Lippia alba* procedentes del Caquetá (Región del piedemonte amazónico), considerando que este es uno de los departamentos más grandes de Colombia y la muestra analizada corresponde sólo a uno de sus 16 municipios que constituyen el departamento. Establecer el mapa completo sobre quimiotipos y rendimientos en su aceite esencial y el de otras especies aromáticas de la región sería muy importante como contribución al proceso de investigación que vienen desarrollando otros grupos como el centro de investigaciones para la agroindustrialización de especies vegetales aromáticas medicinales tropicales (CENIVAM) y de esta forma buscar insertarse a dichos procesos estratégicos del país.

Actividad antimicrobiana

Los resultados de la actividad antimicrobiana de extractos hexánico, acetoetílico y metanólico de *Lippia alba* sobre microorganismos de interés clínico humano (tabla 5) mostraron que solamente la especie *Escherichia coli* fue susceptible frente al extracto de acetato de etilo, mientras que los otros microorganismos fueron resistentes a los

Tabla 5. Actividad antimicrobiana preliminar de extractos de *Lippia alba* a concentraciones de 25.000 y 50.000 µg/ml

Microorganismo	E. Acetoetílico		E. Metanólico		A. esencial		Ampicilina
	C1	C2	C1	C2	C1	C2	(10.000 µg/ml)
<i>Pseudomona aeuriginosa</i>	+	-	-	-	+	+	+++
<i>Ralstonia pickettii</i>	-	-	-	-	+	+	+++
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	-	++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	++	+	+++
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	+	+	+++
<i>Escherichia coli</i>	+	++	-	-	++	+	+++

(-)= inactivo, (+) = activo, +++ > ++ > +

tratamientos y concentraciones que se evaluaron.

Por otra parte, el aceite esencial contra este tipo de gérmenes puso de manifiesto la actividad antimicrobiana que se ha descrito para esta especie ya que todos los microorganismos ensayados fueron susceptibles a las concentraciones evaluadas en este estudio, siendo *E. cloacae*, la especie más sensible. Aunque ya se han reportado propiedades similares tanto de extractos como del aceite esencial de *Lippia alba* contra varios de éstos microorganismos, (Hennebelle 2008) no existen reportes sobre la susceptibilidad de las especie *Ralstonia pickettii* y *Enterobacter cloacae* frente al aceite esencial de esta planta. A pesar de que ambos microorganismos han sido considerados de poca importancia clínica, hoy por hoy han adquirido relevancia ante la creciente aparición de problemas nosocomiales asociados con estas bacterias, la resistencia a drogas debido al uso inadecuado de antibióticos y la resistencia natural que ofrecen las características particulares de sus membranas y pared celular (Stelzmueller I Joseph 1982; Campbell y Farrel 2004).

Si bien, las concentraciones evaluadas para cada extracto no corresponden a la concentración inhibitoria mínima (CIM) y los criterios de susceptibilidad fueron tomados en términos cualitativos con base en los diámetros de inhibición alrededor del sitio donde fueron aplicados los tratamientos, es necesario llevar a cabo experimentos adicionales para tratar de establecer la concentración inhibitoria mínima, en especial para los microorganismos *Enterobacter cloacae* y *Ralstonia pickettii* de los cuales se tiene poca información en lo referente a la susceptibilidad frente al aceite esencial de *Lippia alba*. Se ha sugerido que un valor para CIM de 100-200 µg/ml podría ser considerada interesante tratándose de material vegetal (Hennebelle 2008; Duarte 2005)

Los resultados de este estudio indican que el aceite esencial de *Lippia alba* procedente del municipio de Florencia Caquetá, presenta un quimiotipo particular en cuanto los tres componentes más abundante, pues por lo general se ha descrito el quimiotipo Carvona-limoneno para Colombia, mientras que para esta especie el encontrado fue carbona-1,8 cineol-limoneno. En este aspecto, este trabajo representa una gran contribución al estudio sobre la

composición de especies aromáticas del país y en particular de la especie *Lippia alba* del municipio de Florencia en la región del Caquetá. Posteriores estudios serán orientados a la caracterización en cuanto a la constitución y el rendimiento de los aceites esenciales de *Lippia alba* y otras especies aromáticas de toda la región del piedemonte amazónico. Diferencias en sus constituyentes o rendimientos con respecto a otras regiones podrían marcar también cambios en sus múltiples propiedades descritas y despertar un mayor interés por la inserción de este departamento en programas de investigación sobre agro-industrialización de especies aromáticas y medicinales que ya vienen funcionando en otras regiones del país.

No se encontraron metabolitos secundarios diferentes a los ya reportados en otros estudios para el caso de los extractos hexánico, acetoetílico y metanólico, y por el contrario algunos metabolitos como alcaloides y saponinas que han sido reportados en algunos estudios, aquí no estuvieron presentes.

Se corrobora que el aceite esencial de la especie *Lippia alba* posee actividad antimicrobiana contra *Pseudomona aeuriginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli* como se ha descrito en numerosos trabajos anteriores sobre la misma especie procedente de otras regiones, sin embargo, se establece por primera vez y de manera preliminar, actividad antimicrobiana del aceite de esta especie sobre las bacterias *Ralstonia pickettii* y *Enterobacter cloacae*. Posteriores trabajos serán dirigidos a establecer las respectivas concentraciones inhibitorias mínimas del aceite esencial contra estas dos especies.

Agradecimientos

Le damos nuestros más sinceros agradecimientos a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de la Amazonia por la financiación de este proyecto dentro del marco de la convocatoria de proyectos para semillero de investigación 2013. Así mismo al profesor Hernán García López, actual decano de la facultad de Ciencias de la Universidad de la Amazonia, por su apoyo y colaboración con la estadía en la ciudad de Armenia durante la realización de la estancia. A la profesora Paula Galeano por su apoyo en la asignación del. A Marcela paredes L, por su

apoyo en la coordinación de laboratorios; Alejandra Zapata L., Argenis Perdomo B., Carlos H. Astudillo, Claudia Gonzales B., Hugo Hernando Díaz R., Nichole Dayan R. G., Paula Andrea B., William F. Jaramillo y Yuver V. Gonzales por su asistencia técnica durante la realización del semillero y a todos y todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron con la realización de este trabajo.

Literatura citada

- Abad, M.; Bermejo, P.; Villar, A.; Sánchez, S. y Carrasco, L. 1996. Antiviral activity of medicinal plant extracts. *Phytother. Res.*, 11. pp.198-202.
- Aguiar, J. S.; Costa, Ma C. C. D.; Nascimento, S. C. Sena, K. X. F. R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae), 2008. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 18(3):436-440,
- Blanco-Velandia K. M. y Agudelo-Niño, A. J. 2007. Estudio comparativo de los aceites esenciales de *Lippia alba* Mill N.E. Brown ex Britton & Wills cultivada con tres tipos de compost. Tesis de Químico, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, p. 34
- Barbosa-Filho, J. M., Medeiros, K.C.P, Diniz, M.F.F.M.; Batista, L.M.; Athayde-Filho, P.F.; Silva, M.S.; Cunha, E.V.L.; Almeida, J.R.G.S.; Quintans-Júnior, L. J 2006. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Rev. Bras. Farmacogn.* 16: 258-285
- Bassils, G. B. y Gurni, A.A., 1996. *Especies del Género Lippia Utilizadas en Medicina Popular Latinoamericana*, Dominguezia, 13, (1), 7.
- Bilbao, M. R. 1997. Análisis fitoquímico preliminar. Universidad del Quindío, Armenia-Quindío, Colombia. 180p.
- Campbell, M.K., Farrel, S.O., 2004. Bioquímica, 4º ed., Thomson, México, 454 p.
- Chain, F.; Loandos, M. H.; Fortuna, A. M.; Villecco, M. B. 2007. 74-Síntesis y actividad alelopática de derivados del 1,8-cineol sobre semillas de mono y dicotiledóneas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas medicinales y aromáticas*, 6 (6), 335-336
- Dominguez, Xorge. A. 1973. Métodos de investigación fitoquímica. Centro regional de ayuda técnica: México/Buenos Aires.
- Duarte, M.C.T.; Figueira, G.M; Sartoratto, A. Rehder, V.L.G.; Delarmelina, C. 2005. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 97:305-311
- Duran-G, D.C.; Monsalve, L. A.; Martínez, J. R.; Stashenko, E.E. 2007. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. *Scientia et Technica* Año XIII, No. 33. 435-438.
- Gupta, P.M. 270 Plantas medicinales iberoamericanas. 1995. CYTED-SECAB, Editorial Presencia. Santafé de Bogotá, Colombia. pp.557-563.
- Harborne, J.B. and Baxter, H. Chemical Dictionary of Economic Plants. 2001. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK. 217 pp.
- Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Joseph, H.; Bailleul, F. O. 2008. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 211-222
- Higa, S.; Pastor, A.; Nicoletti, M. 1988. Estudio Fitoquímico de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. *Revista de Química, Revista de Química*, Vol. II. Nº 2. 105-109.
- Joseph, F. J.; Sharbaugh, R. J.; Bannister, E. R. 1982. Enterobacter cloacae: Bacteremia, Epidemiology, and antibiotic resistance. *Clin. Infect. Dis.* 4(1): 13-28
- Klocke, J. A.; Darlington, M. V.; Balandrin, M. F. 1987. "8-Cineole (Eucalyptol), a Mosquito Feeding and Ovipositional Repellent from Volatile Oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae)". *Journal of Chemical Ecology* 13 (12): 2131.
- Medina-López, L.A.; Araya-Barrantes, J.J.; Tamayo-Castillo, G.; Romero, M. R. 2011. Comparación de metodologías de extracción para Limoneno y Carvona en *Lippia alba* Usando Cromatografía de Gases. *Scientia et Technica* año XIII, No. 33, UTP. p.345-348
- Ming, L.C ; Steffanini, M., Rodríguez, S. 2002. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. *Horticult. Brasil.* 20: (1), 18-23.
- Ming, L.C. 1992 Influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lioppia alba* (Mill.) N.E.Br. Verbenaceae. (Tese mestrado. Curitiva:UFPr. 206 p.
- Pascual, M.; Slowing, K. Carretero, M.; Villar, V. 2001. Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae), *IL Farmaco*, 56, 501-504.
- Pessini, G. L., Holetz, F.B.; Sanches, N.R; Cortez, D.A.G.; Dias-Filho, B.P.; Nakamura, C.V. 2003. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Rev Bras Farmacogn* 13 (Supl. 1): 21-24
- Ricciardi, G.; Ricciardi, A.; Bandoni, A. 2000. Fitoquímica de verbenáceas (*Lippias* y *Aloysias*) del nordeste Argentino, Facultad de Ciencias Exactas y Agrimensura. *Comun. Cient. Tecnol.* 104-108.
- Ricciardi, G.; Veglia, J.; Ricciardi, A.; Bandoni, A. 1999. Examen comparado de la composición de los aceites esenciales de especies autóctonas de *Lippia alba* (Mill.) N. E. BR., Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. *Comun. Cient. Tecnol.* VIII. pp.103-106.
- Sanabria, G. A. 1983. Análisis fitoquímico preliminar: metodología y su aplicación en la evaluación de cuarenta plantas de la familia Compositae. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Santafé de Bogotá.
- Savia, L.; Gaidoa, D.; Bettegaa, D.; Mancinib, D.; Ameidab de, C.; Barbosab, R.A.; Fariasb, M.R.; Barardia, C.; Simoesa, D. 2005. Antiviral evaluation of plants from Brazilian Atlantic Tropical Forest, *Fitoter.* 76, 374-378.
- Sena-Filho, J.G.; Melo, J.G.S.; Saraiva, A. M.; Gonçalves, A. M, Psiottano, M.N.C.; Xavier, H.S. 2006. Antimicrobial activity and phytochemical prolife from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. *Rev Bras. Farmacogn* 16: 506-509
- Stelzmueller, I.; Biebl, M.; Wiesmayr, S.; Hoeller, E.; Fille, M.; Weiss, G.; Lass-Floerl, C.; and Bonatti, H. 2006. *Ralstonia pickettii*-Innocent bystander or a potential threat? *Clin. Microbiol. Infect.* 12:99-101
- TAVARES, E.S., Julião LS, López D, Bizzo HR, Lage CLS, Leitão SG 2005. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Rev Bras Farmacogn* 15: 1-5.
- Valle, T.; Matos, F.; Lima, T. 1999. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes, *J. Ethnopharm.*, 167: pp.127-133.

- Velandia, B. K., Agudelo, N. J. Estudio comparativo de los aceites esenciales de *Lippia alba* Mill. N. E. Brown ex Britton & Wills cultivada en tres tipos de compost, 2007. Tesis (Química), Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Vera, J. R.; Pastrana, P. F.; Fernández, K.; Viña, A. 2007. Actividad antimicrobiana in vitro de volátiles y no volátiles de *Lippia alba* y extractos orgánicos y acuoso de *Justicia pectoralis* cultivadas en diferentes pisos térmicos del departamento del Tolima. *Scientia et Technica* Año XIII, No 33, 345-348.